

响应面优化超声波提取栀子油脂工艺研究*

袁源见,罗光明**,魏春华,饶雅琪,龚雨虹

(江西中医药大学药学院 南昌 330004)

摘要:目的:本研究采用响应面优化超声波提取栀子中油脂的提取工艺。方法:通过单因素实验,确定提取时间、液料比和提取次数为影响因子,采用响应面法分析3个因素对栀子油脂提取率的影响。结果:最佳提取条件为提取时间为28.7 min,液料比为11.62:1,提取次数为3.36次,在此条件下,做3次平行试验进行验证,得到栀子油脂的提取率为13.50%,与模型预测值之间拟合性较好。结论:超声波提取有效的提高栀子油脂的提取率,为栀子油脂的开发利用提供了一定的依据。

关键词: 栀子油脂 超声波提取 响应面分析 提取工艺

doi:10.11842/wst.2016.07.021 中图分类号:R282 文献标识码:A

栀子为茜草科植物栀子 *Gardenia jasminoides* Ellis 的干燥成熟果实,是我国传统常用中药材,为历版中华人民共和国药典所收载。功效为清热利湿,泻火除湿,凉血解毒;外用消肿止痛。现代药理研究表明栀子具有抗氧化作用^[1-2]、抗炎镇痛作用^[3]、抗微生物作用^[4]、保肝利胆作用^[5-7]、降血糖作用^[8]等。栀子油占栀子果实的12%以上,富含亚油酸,是一种很好的营养物质,现代药理表明栀子油脂具有镇静、催眠、抗惊厥以及促进学习记忆的作用^[9]。

孟陆丽等^[10]以栀子油为原料,通过响应面法得到栀子油乙酯化的最佳工艺条件为醇油摩尔比6.7:1,反应温度75℃,催化剂用量为栀子油质量的1.65%,反应时间2.5 h,在此工艺条件下乙酯化反应产物的羟基值为146.62 mg·g⁻¹。杨云等^[11]通过索氏提取法得到栀子油脂,并利用气相色谱-质谱-计算机联用分析方法测定栀子油脂中的脂肪酸含量。杨晓红等^[12]研究表明栀子中含有丰富的油脂,且栀子中亚油酸的含量较高,油脂的成分简单。甘辉等^[13]通过索氏提取法,提取栀子果油,并研究栀

子果油的理化性质和果油中脂肪酸的种类和含量。李炜^[14]应用索氏提取法确定,当颗粒度为40目,温度为85℃,提取时间为8 h,料液比为1:4时,栀子果实的出油率最高。杨冀艳等^[15]采用石油醚为提取溶剂,应用超声波提取鲜栀子湿果种籽中的栀子油,油脂产率较高的提取条件为:液料比为10:1,超声处理提取时间为45 min,提取次数为3次/h。以上方法都是研究栀子油脂的提取工艺,但基本上都是通过单因素的方法来确定油脂的提取条件,并不能确定油脂的最佳提取工艺。本实验通过单因素分析和响应面实验设计法优化工艺条件,为栀子油脂的开发利用提供理论基础和技术依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

栀子由江西省九江市湖口县提供,经鉴定为栀子的果实,经干燥粉碎后过20目筛。石油醚分析纯(西陇化工股份有限公司)。

1.2 仪器与设备

KQ-250型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);RE 52-99旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器

收稿日期 2016-03-04

修回日期 2016-04-29

* 国家中医药管理局国家公益性科研专项(201507002):栀子药材优良品种选育方法及种植质量控制技术研究,负责人:罗光明;江西省教育厅2015年研究生创新专项(YC2015-S346):基于AHP的模糊综合评判在栀子区划中的研究,负责人:袁源见。

** 通讯作者:罗光明,博士,教授,主要研究方向:中药资源开发与应用研究。

厂);予华牌循环水真空泵(巩义市予华仪器有限责任公司);GZX-9070MBE 数显鼓风干燥器(上海博迅实业有限公司医疗设备厂);二两装高速中药粉碎机(浙江瑞安市永历制药机械有限公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 栀子果实油脂的提取

准确称取一定量的栀子粉末置于锥形瓶中,加入一定量的石油醚溶液。将锥形瓶置于超声波清洗器中进行提取,控制超声波清洗器提取时间和提取次数,取出提取液冷却,过滤,提取液转入圆底烧瓶中,将溶剂旋转蒸发完全,精密称取馏分为栀子油脂的质量。

1.3.2 栀子油脂提取率的计算

在锥形瓶中加入一定量的栀子粉末,加入石油醚,超声提取,冷却,过滤,旋蒸,得到栀子油脂,测出栀子油脂的质量,从而计算出提取率。

$$\text{提取率}/\% = \frac{\text{栀子油脂质量}}{\text{原料质量}} \times 100\%$$

1.3.3 提取时间对提取率的影响

准确称取栀子粉末一定量,以液料比为 12:1,提

表 1 实验设计方案因素水平

因素	水平		
	-1	0	1
X_1 提取时间/min	25	30	35
X_2 液料比	11	12	13
X_3 提取次数	2	3	4

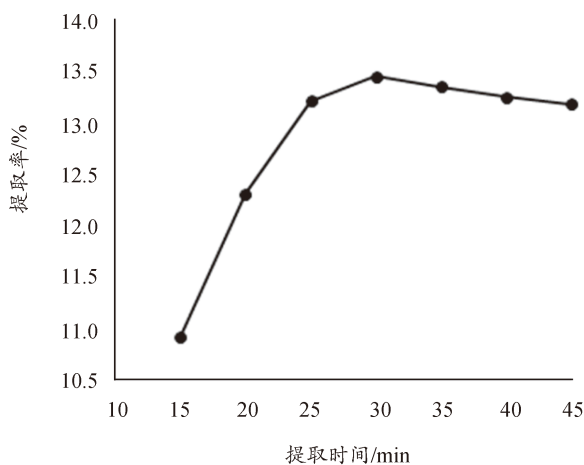


图 1 提取时间对栀子油脂提取率的影响

取次数为 3 次,分别考察不同提取时间的油脂提取率,重复 3 次,求 3 次的平均值。

1.3.4 液料比对提取率的影响

准确称取一定量栀子粉末,提取次数为 3 次,提取时间为上述实验所选的结果,选择不同料液比,观察其对栀子油脂提取率的影响,重复 3 次,求 3 次的平均值。

1.3.5 提取次数对提取率的影响

准确称取一定量栀子粉末,提取时间和液料比为上述实验所选的结果,分别考察提取次数对提取率的影响,重复 3 次,求 3 次的平均值。

1.3.6 响应面优化实验

通过单因素实验,确定提取时间、液料比和提取次数这三个因素,为了考察提取时间、液料比和提取次数对栀子油脂的提取率的交互影响,采用 Box-Behnken^[16,17] 中心组合进行三因素三水平的试验设计,以栀子油脂提取率(Y)为响应值,采用响应面法进行分析,试验因素及水平安排见表 1。

2 结果与分析

2.1 提取时间对提取率的影响

在液料比为 12:1,提取次数为 3 次的超声波条件下,考察超声提取时间为 15、20、25、30、35、40 和 45 min 时,栀子油脂的提取率,结果见图 1。

由图 1 可以得出,栀子油脂的提取率是随着提取时间的增加而升高,30 min 栀子油脂的提取率达到最高,而后逐渐降低,过长的超声提取时间,会导致栀子油脂颗粒破裂分散,从而降低油脂的提取率,因此,栀子油脂提取率最佳的提取时间为 30 min。

2.2 液料比对提取率的影响

当提取时间为 30 min,提取次数为 3 次时,分别考察液料比为 8:1、9:1、10:1、11:1、12:1、13:1 时,栀子油脂的提取率,见图 2。

由图 2 可以看出,油脂提取率随着液料比的增加而升高,提取溶剂石油醚使用量的增大,浓度差也增大,使得提取率升高。而在液料比为 12:1 后,液料比反而限制了油脂的提取率,这是因为栀子粉末在液相中有更大的空间,使超声波相同的时间内,作用到栀子粉末的概率减小,故提取效率降低,因此,液料比为 12:1 时是提取率最佳的条件。

2.3 提取次数对提取率的影响

当提取时间为 30 min,液料比为 12:1 时,考察提取次数对提取率的影响,结果见图 3。由图 3 可以

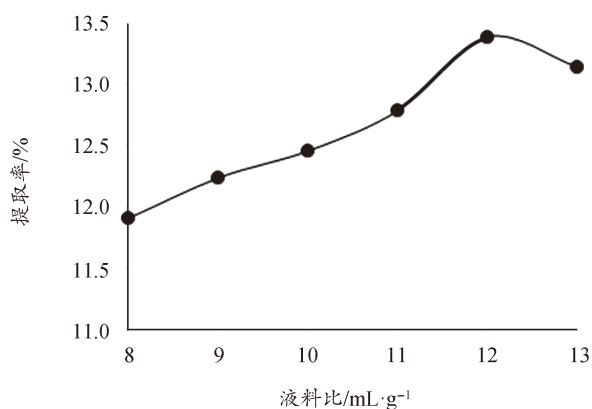


图2 液料比对栀子油脂提取率的影响

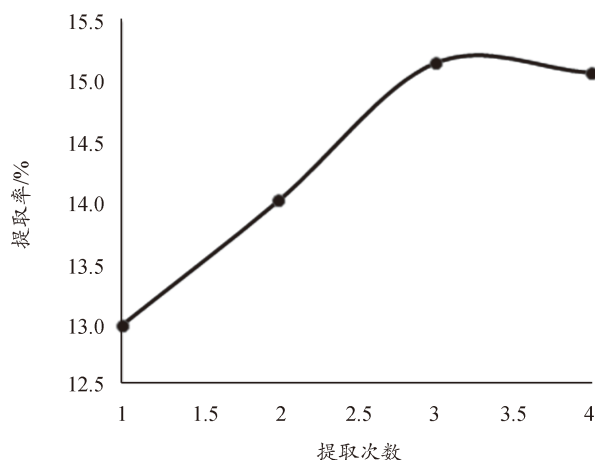


图3 提取次数对栀子油脂提取率的影响

看出,随着提取次数的增加,栀子油脂的提取率也升高,当提取次数为3次时,提取率达到最高,此后提取率略微下降,考虑到提取的成本以及其他因素,因此选择提取次数为3次。

2.4 响应面优化提取工艺

2.4.1 响应面试验设计

通过单因素试验,确定提取时间、液料比和提取次数这三个因素的基础上,采用 Box-Behnken 中心组合进行三因素三水平的试验设计。试验设计及结果如表2。

通过 Design-Expert 软件对表2中的实验结果进行回归拟合,所得回归拟合方程为: $Y=13.45-0.13X_1-0.13X_2+0.26X_3+0.32X_1X_2-0.23X_1X_3-0.28X_2X_3-0.65X_1^2-0.41X_2^2-0.60X_3^2$ 。对回归拟合模型方程进行方差分析,结果见表3。

表2 响应面试验设计及结果

试验号	因素			提取率/%
	X_1	X_2	X_3	
1	-1	1	0	12.18
2	0	0	0	13.20
3	0	0	0	13.51
4	0	1	-1	12.28
5	0	1	1	12.54
6	0	0	0	13.45
7	0	0	0	13.24
8	0	0	0	13.35
9	1	0	0	12.80
10	1	-1	0	11.94
11	-1	0	1	12.50
12	0	-1	1	13.19
13	1	1	0	12.16
14	1	0	-1	12.32
15	0	-1	-1	11.81
16	-1	-1	0	13.23
17	-1	0	-1	11.80

表3 回归模型方差分析

方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值
模型	5.85	9	0.65	5.72	0.0157*
X_1	0.12	1	0.12	1.04	0.3425
X_2	0.13	1	0.13	1.12	0.3248
X_3	0.39	1	0.39	3.47	0.1049
X_1X_2	0.40	1	0.40	3.55	0.1047
X_1X_3	0.12	1	0.12	1.01	0.3476
X_2X_3	0.31	1	0.31	2.76	0.1407
X_1^2	1.63	1	1.63	14.34	0.0068**
X_2^2	0.62	1	0.62	5.46	0.0522
X_3^2	1.21	1	1.21	10.68	0.0137*
残余项	0.80	7	0.11		
失拟项	0.50	3	0.17	2.26	0.2236
纯误差	0.30	4	0.074		
总和	6.65	16			

注: ** $P<0.01$,影响极显著; * $P<0.05$,影响显著。

由表 3 可知,模型影响显著($P < 0.05$),而失拟项不显著,预测值与实验值之间有良好的相关性,因此,采用响应面分析法进行栀子油脂的提取试验设计所得的回归模型是有效的。 X_1^2 对应的 P 值小于 0.01,说明其对栀子油脂的提取率影响极显著, X_3^2 所对应的 P 值小于 0.05,说明其对栀子油脂提取率的影响显著, X_1 、 X_2 、 X_3 、 X_1X_2 、 X_1X_3 、 X_2X_3 、 X_2^2 对栀子油脂提取率的影响不显著。综合各方面考虑,各因素对栀子油脂提取率的影响为:提取次数 > 提取时间 > 液料比。

2.4.2 响应面图分析

各因素交互作用的等高趋势线及响应面图分别见图 4-6。图 4-6 是根据回归方程所做出的响应曲面和等高线图,各图形能够直观的反应出各因素之间的交互作用以及各因素和响应值之间的关系,等高线呈圆形表示两因素交互作用不显著,而呈椭圆形或马鞍形则表示两因素交互作用显著^[18],由图 5 和图 6 可以看出,提取时间(A)和提取次数(C)、液料比(B)和提取次数(C)等高线图呈明显的椭圆形,表明两因素间交互作用较显著。相比之下,提取时

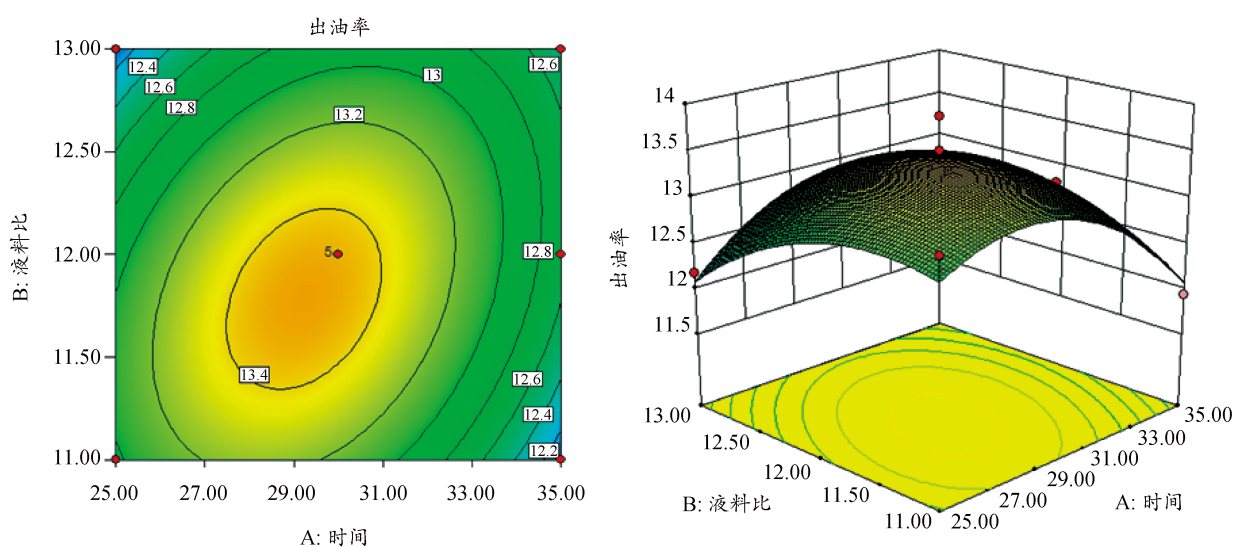


图 4 提取时间和液料比交互影响对栀子油脂提取率的等高线和响应曲面图

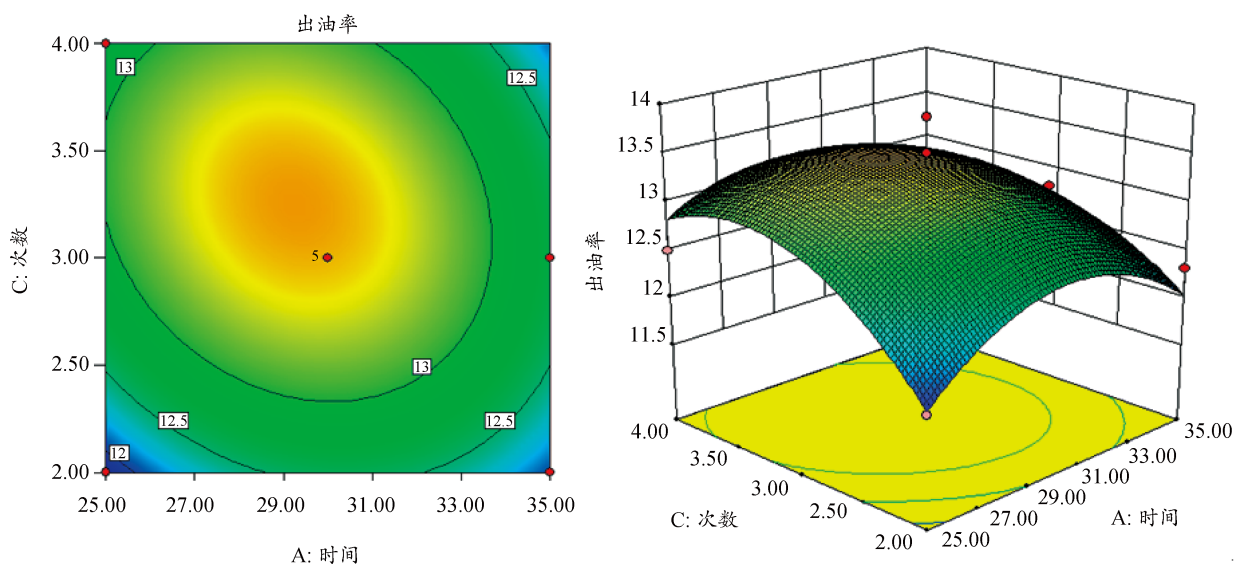


图 5 提取时间和提取次数交互影响对栀子油脂提取率的等高线和响应曲面图

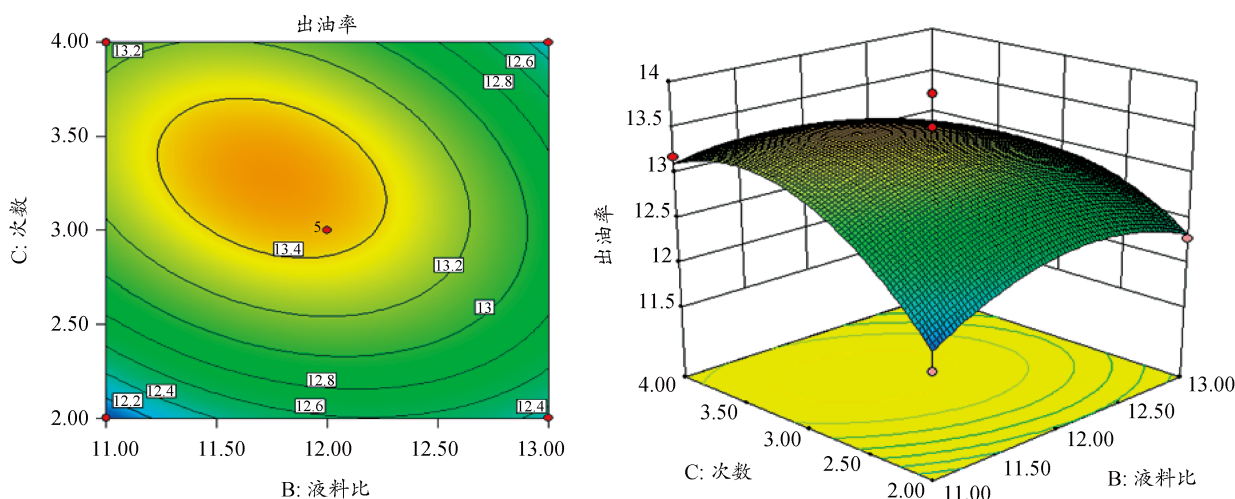


图6 液料比和提取次数交互影响对栀子油脂提取率的等高线和响应曲面图

间(A)和液料比(B)等高线图呈圆形,表明两因素间交互作用不明显。由图4可知,当提取时间一定时,栀子油脂的提取率受液料比的影响较小,随着液料比的增大均先增大而后有所下降,而当液料比一定时,提取时间对提取率的影响较大,提取率随着提取时间的增大而增大,当提取时间增大到一定的程度,随着提取时间的增大提取率逐渐降低。由图5可以得出,栀子油脂提取率随着提取时间的变化,呈先升高后降低的变化趋势,提取次数也是一样,在提取时间为30 min,提取次数为3次时栀子油脂的提取率最高。由图6可以看出,在液料比为12:1,提取次数为3次时提取率最佳,液料比变化曲面不如提取次数变化曲面陡,说明液料比对栀子油脂的提取率不如提取次数对油脂提取率的影响大,与方差分析的结果一致,从等高线图可以看出,提取次数轴向等高线密集,说明提取次数对油脂提取率的影响较大,而液料比轴向等高线相对稀疏,说明液料比对油脂提取率影响较小^[19]。

2.4.3 最佳工艺验证试验

响应面优化设计得到栀子油脂提取率的最佳工艺条件为:超声提取时间为28.7 min,液料比为11.62:1,提取次数为3.36次,测得栀子油脂提取率为13.54%。考虑到实际试验,将提取时间改为29 min,液料比为12:1,提取次数为3次,在此条件下进行试验,测得油脂提取率为13.50%,与理论值相近。

3 结论

本文对栀子油脂的超声提取工艺做了较为全面

的研究,首先通过提取时间、液料比和提取次数三个单因子对栀子油脂的提取率进行研究,在单因素试验的基础上,采用响应面法优化超声提取栀子油脂工艺,利用Design-Expert 8.0.6软件对实验数据进行分析,建立提取时间、液料比和提取次数的回归模型,并对该模型进行拟合,经过实验进行验证,能够预测栀子油脂的提取率, X_1^2 对应的P值小于0.01,说明其对栀子油脂的提取率影响极显著, X_3^2 所对应的P值小于0.05,说明其对栀子油脂提取率的影响显著, X_1 、 X_2 、 X_3 、 X_1X_2 、 X_1X_3 、 X_2X_3 、 X_2^2 对栀子油脂提取率的影响不显著,从而发现三个单因子之间不是简单的线性关系,因此采用响应面优化提取工艺的方法是可行的。得到最佳的提取工艺:提取时间为28.7 min,液料比为11.62:1,提取次数为3.36次,测得栀子油脂提取率为13.54%。对工业上大批量提取栀子油脂提供一定的参考依据。

响应面法考虑实验的随机误差,而传统的优化方法对实验的随机误差不进行考虑。响应面法将复杂的问题简单化,用简单的多项式进行拟合,使计算简便。当然,响应面设计也存在一些不足,当变量较多或模型是线性关系时,需要考虑的问题也较多,简单的多项式拟合就不能满足实验的需要,因此必须用其它的方法进行设计实验。响应面设计在很多领域得到应用,尤其在食品工业、化学工艺、生物学等都应用比较广泛,因此应用响应面设计优化栀子油脂的提取工艺可行性高,为进一步开发栀子油脂奠定基础。

参考文献

- 1 Debnath T, Park P J, Deb Nath N C, *et al.* Antioxidant activity of *Gardenia jasminoides* Ellis fruit extracts. *Food Chem*, 2011, 128(3): 697–703.
- 2 Yin F, Liu J H, Zheng X X, *et al.* GLP-1 receptor plays a critical role in geniposide-induced expression of heme oxygenase-1 in PC12 cells. *Acta Pharmacol Sin*, 2010, 31(5): 540–545.
- 3 朱江, 蔡德海, 芮菁. 栀子的抗炎镇痛作用研究. *中草药*, 2000, 31(3): 198.
- 4 倪慧艳, 张朝晖, 傅海珍. 中药栀子的研究与开发概述. *中国中药杂志*, 2006, 31(7): 538–541.
- 5 张海燕, 邬伟魁, 杨明, 等. 栀子保肝利胆作用及其肝毒性研究. *中国中药杂志*, 2011, 36(19): 2610–2613.
- 6 付田, 蒲蕾, 谭健, 等. 栀子京尼平苷对小鼠急性酒精性肝损伤的保护作用. *中药药理与临床*, 2007, 23(3): 252–271.
- 7 彭捷, 钱之玉, 刘同征, 等. 京尼平苷和西红花酸保肝利胆作用的比较. *中国新药杂志*, 2003, 12(2): 1052–1081.
- 8 黄洪林, 杨怀瑾, 刘立超, 等. 栀子降血糖作用的实验研究. *中药新药与临床药理*, 2006, 17(1): 1–3.
- 9 李宝莉, 陈雅慧, 杨暄, 等. 栀子油的提取和对中枢神经系统的作用. *第四军医大学学报*, 2008, 29(23): 2152–2155.
- 10 孟陆丽, 程谦伟, 秦利平. 栀子油制备脂肪酸乙酯工艺的优化. *湖北农业科学*, 2012, 51(15): 3292–3294.
- 11 杨云. 栀子油脂中脂肪酸的 GC/M 分析. *分析测试通报*, 1992, 11(5): 65–67.
- 12 杨晓红, 胡明阳, 许延山. 栀子油脂制取亚油酸的研究. *湖北化工*, 2001, 18(2): 13–14.
- 13 甘辉, 万明, 石小凤, 等. 栀子果油的脂肪酸组成及其主要理化性质分析. *食品科技*, 2009(3): 24–25.
- 14 李炜. 栀子果化学成分的综合应用研究. *北京林业大学*, 2006: 6.
- 15 杨冀艳, 徐世晓, 胡磊. 超声波辅助提取栀子油及其脂肪酸组成成分研究. *食品科学*, 2008, 29(11): 246–249.
- 16 Fu H Y, Xu P C, Huang G H, *et al.* Effects of aeration parameters on effluent quality and membrane fouling in a submerged membrane bioreactor using Box–Behnken response surface methodology. *Desalination*, 2012, 302: 33–42.
- 17 Fan J P, Cao J, Zhang X B, *et al.* Optimization of ionic liquid based ultrasonic assisted extraction of puerarin from *Radix Puerariae Lobatae* by response surface methodology. *Food Chem*, 2012, 135(4): 2299–2306.
- 18 Muralidhar R V, Chirumamila R R. A response surface approach for the comparison of lipase production by *Candida cylindracea* using two different carbon sources. *Biochemistry Engineering Journal*, 2001, 9(1): 17–23.
- 19 张玉香, 屈慧鸽, 杨润亚, 等. 响应面法优化蓝莓叶黄酮的微波提取工艺. *食品科学*, 2010, 31(16): 33–37.

Optimizing the Ultrasonic Extraction of Gardenia Oils from *Gardenia Jasminoides* Ellis by Response Surface Methodology

Yuan Yuanjian, Luo Guangming, Wei Chunhua, Rao Yaqi, Gong Yuhong

(School of Pharmacy, Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004, China)

Abstract: This study aimed to optimize the ultrasonic extraction of gardenia oils from *Gardenia jasminoides* Ellis. by response surface analysis methodology (RSM). The duration of extraction, ratio of liquid to materials and extracting times were selected as impact factors based on single-factor experiment. RSM was adopted to learn the effects of the three factors on the extraction rate of *Gardenia* oil from *Gardenia jasminoides* Ellis. As a result, it was found that the duration of extraction was 28.7 min, while the ratio of liquid to materials was 11.62 :1, and the number of extracting times were 3.36. Under this extracting condition, the average extraction rate of the oil was 13.5% according to three validation experiments, fitting the predicted value well. In conclusion, it was demonstrated that the ultrasonic extraction method effectively improved the extraction rate of gardenia oil, providing a certain basis for the development and utilization of gardenia oil.

Keywords: Gardenia oil, ultrasonic extraction, response surface analysis, extraction process

(责任编辑:姜月滢,责任译审:朱黎婷)